

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/188965>

Please be advised that this information was generated on 2018-04-11 and may be subject to change.

ANALYSE QUANTITATIVE DE LA DISTRIBUTION DES OOCYSTES DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* CHEZ *ANOPHELES GAMBIAE*

PICHON G.*, ROBERT V.**, TCHUINKAM T.***, MULDER B.*** & VERHAVE J.P.****

Summary: A QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE DISTRIBUTION OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* OOCYSTS IN *ANOPHELES GAMBIAE*

It is now admitted that antimalarial immunity is, at least in part, strain specific. This finding implies that qualitative differences exist among sporozoites and might exist among oocysts. Our study concerned two distributions of *Plasmodium falciparum* oocysts. The first distribution was largely exposed in Tchuinkam *et al.* (1993) and has been obtained from *An. gambiae* s.s. infected through experimental device with blood of 154 gametocytes carriers. The other distribution was exposed in Pringle (1966) and has been obtained from indoor resting freshly fed *An. gambiae* s.l. collected in an hyperendemic area. The totals of mosquitoes were 5,704 and 1,540, and the totals of oocysts were 2,440 and 1,308, respectively. Each oocyst population in each experimental infection of Tchuinkam *et al.* was negative binomially distributed. They had variable means and a constant degree of aggregation. This constant, common for each infection ($k_c = 0.267 \pm 0.020$) was calculated by maximum likelihood method. This value was very low comparing to $k = 1$ observed for bancroftian microfilariae. That suggest a non-proportional (*i.e.* density-dependent) relation between the numbers of ingested gametocytes and oocysts which were produced. In the field, the system « *P. falciparum* oocysts in *An. gambiae* » was also well adjusted to a binomial negative distribution with a very high degree of heterogeneity ($k < 0.05$, depending on the situations). As a consequence, in laboratory as in the field, the calculation of the degree of oocyst infection appears to be possible directly from the oocyst index. The Pringle's data analysis permit to conclude that results of epidemiological studies must be presented without mixing different vector species. The authors highlight the notion of « non-parasitable » vector (composed of refractory mosquitoes to the ingested plasmodial strain and mosquitoes fed on human host without gametocyte) and propose a method to estimate the relative part of each of these two components.

KEY WORDS : *Plasmodium falciparum*, *Anopheles gambiae*, oocyst, distribution, negative binomial, overdispersion.

Résumé :

Il est maintenant admis que l'immunité antipaludique est, au moins en partie, spécifique de souches plasmodiales. Cela implique que des différences qualitatives existent entre les sporozoïtes et pourraient exister entre les oocystes. Notre étude porte sur deux distributions d'oocystes de *Plasmodium falciparum*. La première distribution a été exposée par Tchuinkam *et al.* (1993) et a été obtenue à partir de 154 lots d'*Anopheles gambiae* s.s. expérimentalement infectés avec le sang d'autant de porteurs de gamétocytes. La seconde a été exposée par Pringle (1966) et a été obtenue à partir d'*An. gambiae* s.l. fraîchement gorgés, récoltés au repos dans les maisons d'une zone hyperendémique. Les nombres totaux d'oocystes sont respectivement 2 440 et 1 308 pour respectivement 5 704 et 1 540 vecteurs. Dans chaque infection expérimentale réalisée par Tchuinkam *et al.* les distributions des oocystes sont toutes ajustables à des distributions binomiales négatives de moyennes variables mais de surdispersions constantes. La valeur du k commun (k_c), calculé par la méthode du maximum de vraisemblance est $k_c = 0,267 \pm 0,020$. La faiblesse de cette valeur, par rapport à celle observée dans le cas des microfilaires de Bancroft, suggère qu'il existerait une relation non-proportionnelle (*c'est-à-dire* densité-dépendante) entre le nombre de gamétocytes ingérés et celui d'oocystes qu'ils produisent. Dans la nature, le système « oocyste de *P. falciparum* chez *An. gambiae* » est correctement ajusté par une loi binomiale négative dont la surdispersion est très grande ($k < 0,05$). En laboratoire comme dans la nature il est possible de déduire l'intensité de l'infection en oocystes directement à partir de l'indice oocystique. L'examen des données de Pringle permet de conclure que les résultats d'études épidémiologiques doivent être présentés sans regroupement d'espèces vectrices. Les auteurs dégagent la notion de vecteurs « non parasitables » (composés de vecteurs réfractaires à la souche plasmodiale ingérée et de vecteurs nourris sur hôtes sans parasites sexués) et proposent une méthode d'estimation de la part relative de chacune de ces deux composantes.

MOTS CLÉS : *Plasmodium falciparum*, *Anopheles gambiae*, oocyste, distribution, loi binomiale négative, surdispersion.

INTRODUCTION

Le principal parasite responsable du paludisme, *Plasmodium falciparum*, fait actuellement l'objet de nombreuses recherches. Un domaine particulièrement étudié concerne la phase de son cycle dans l'anophèle vecteur. Des recherches qualitatives ont tenté de mettre en évidence les facteurs qui contrôlent la réussite de l'infection des anophèles. La densité de gamétocytes a été le principal facteur identifié

* Laboratoire d'Informatique Appliquée (Modélisation des Systèmes Complexes Appliqués aux Organismes Vivants), Centre ORSTOM d'Ile de France, Bondy, France.

** Laboratoire de Paludologie, Centre ORSTOM de Dakar, Sénégal.

*** Laboratoire de Recherche sur le Paludisme, Antenne ORSTOM auprès de l'OCEAC, Yaoundé, Cameroun.

**** Institut de Microbiologie médicale, Université de Nimègue, Les Pays-Bas.

Correspondance : Vincent Robert, ORSTOM, BP 1386, Dakar, Sénégal. Tel : (221) 32 09 62 - Fax : (221) 32 16 75.

E-mail : robert@belair.orstom.sn

dans cette réussite pour les infections naturelles (Tchuinkam *et al.*, 1993). Certaines caractéristiques génétiques de l'hôte telles que la drépanocytose peuvent avoir un effet favorisant le passage du parasite depuis l'homme vers le moustique dans la zone où la prévalence de cette hémoglobinopathie est substantielle (Robert *et al.*, 1996). Pour les infections expérimentales à partir de gamétocytes de cultures, c'est seulement l'isolat parasite qui est déterminant pour le succès de l'infection (Noden *et al.*, 1994). Des recherches quantitatives se sont attachées à dénombrer les oocystes sur la paroi externe de l'estomac et les sporozoïtes dans les glandes salivaires des anophèles infectés. Tous ces travaux soulignent l'extrême hétérogénéité des observations.

Pour se limiter au stade oocyste, le nombre d'oocystes observés sur des moustiques qui ont ingéré au moins un repas de sang potentiellement infectant varie entre zéro et plusieurs centaines. En termes de transmission ceci peut être examiné sous trois aspects différents :

- les moustiques qui n'ont aucun oocyste; ils présentent la singularité évidente de ne pas pouvoir assurer la transmission du parasite;
- les moustiques qui ont un seul oocyste; dans cet oocyste s'effectuent plusieurs divisions dont la première est réductionnelle; les sporozoïtes libérés seront tous issus du même œuf;
- les moustiques qui ont plusieurs oocystes; les sporozoïtes issus de ces oocystes proviendront de plusieurs œufs; l'ensemble de ces sporozoïtes sera donc plus hétérogène sur le plan génétique que celui issu d'un seul oocyste. Il est logique de penser que cette hétérogénéité augmente avec le nombre d'oocystes (même si les oocystes proviennent d'un unique repas sanguin, et *a fortiori* s'ils proviennent de plusieurs).

Chaque oocyste produit quelque 3 000 sporozoïtes (Rosenberg & Rungsiwongse, 1991). La charge sporozoïtaire des glandes salivaires est proportionnelle au nombre d'oocystes; elle est estimée à une moyenne de 663 sporozoïtes qui pénètrent dans les glandes salivaires par oocyste (Vaughan *et al.*, 1992). Toutefois le nombre de sporozoïtes injectés lors des piqûres infectantes ne semble pas dépendre de la charge sporozoïtaire des glandes salivaires (Ponnudurai *et al.*, 1991; Beier *et al.*, 1992). Le nombre de sporozoïtes injectés par piqûre a une moyenne géométrique de l'ordre d'une dizaine ou d'une vingtaine (selon les auteurs) mais il peut atteindre plusieurs centaines dans un faible pourcentage des cas. Il pourrait directement avoir une influence sur la gravité de la maladie par un effet purement quantitatif (March, 1992; Glynn, 1994). Par ailleurs la prémunition naturelle des populations humaines est partiellement basée sur une protection spécifique de souches parasitaires (Gupta & Day, 1994). Le déclenchement de la maladie palustre chez

un individu prémuni serait donc consécutif à la rencontre avec une souche parasitaire jusque là inconnue de son système immunitaire (Contamin *et al.*, 1996). Dans cette hypothèse le déclenchement de la maladie chez un sujet prémuni pourrait essentiellement être le fait des inoculations de sporozoïtes provenant d'un grand nombre d'oocystes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la distribution des oocystes dénombrés sur l'estomac des anophèles.

LES DISTRIBUTIONS PARASITAIRES

La loi de Poisson n'est pas adéquate pour l'étude de la dispersion des oocystes car la variance diffère très largement de la moyenne. La surdispersion, définie par une variance très supérieure à la moyenne, est évaluée par le coefficient k , qu'on pourrait nommer « égalitarisme » (Pichon *et al.*, 1993) puisqu'il varie inversement à la surdispersion. Il est infini dans le cas de la loi de Poisson où la situation est biologiquement la plus égalitaire au regard du parasitisme, affectant aléatoirement autour d'une moyenne constante les hôtes potentiels; par contre, il tend vers 0 dans le cas d'une forte dispersion, le parasitisme affectant massivement quelques rares hôtes mais épargnant le plus grand nombre. Dans les conditions naturelles, les systèmes hôtes-parasites ont un k variant entre 0,1 et 5,0.

Bliss et Fisher (1953) ont appliqué la loi binomiale négative (BN) à des couples hôte-parasite. Crofton (1971a) a proposé que la surdispersion soit intégrée dans la définition du parasitisme et que la BN, bien adaptée aux distributions surdispersées, soit la loi de référence en parasitologie. Cependant, la plupart des auteurs ont continué à utiliser la loi log-normale, qui fut recommandée par un comité d'experts (Anonyme, 1967). Pichon *et al.* (1975, 1979), travaillant sur la filariose de Bancroft, ont montré que les infections expérimentales de vecteurs suivaient une loi géométrique (cas particulier de la BN où $k = 1$). On démontre qu'une telle distribution peut résulter de la conjonction de deux processus probabilistes de Poisson. Le premier suppose que les intervalles de temps entre microfilaires dans la circulation générale sont distribués au hasard, de même que les durées de la traversée du lit capillaire par des parasites isolés. Les microfilaires ne peuvent se dépasser dans les capillaires où elles sont prélevées par leurs vecteurs. Suite à cette contrainte, les parasites forment des « files d'attente » dont la taille suit une loi géométrique (Pichon *et al.*, 1980a). Ce phénomène a été reproduit grâce au logiciel de simulation CinéFil (Pichon & Mullan, 1992). De descriptif et empirique, le modèle BN était devenu explicatif et propose un ajustement optimum. La surdispersion k est une constante (y compris pour les microfilaires chez l'homme, après un traitement anti-parasitaire de masse; Pichon *et al.*, 1979) caractéristique

du système hôte/parasite à un stade donné. Crofton (1971b), sur un acanthocéphale chez l'hôte intermédiaire crustacé, a trouvé un k différent pour chaque échantillon mais le réexamen de ses données a montré la constance de k (Pichon *et al.*, 1980b). La constance de k permet d'estimer la fréquence des faux négatifs et la prévalence réelle. Ces observations ont été confirmées par Grenfell *et al.* (1990) sur *Wuchereria bancrofti*, et par de Vlas et Gryseels (1992) sur *Schistosoma mansoni*.

Notre étude de la distribution des oocystes de *P. falciparum* sur la paroi des estomacs d'*An. gambiae* porte sur deux séries de données : des données acquises avec des anophèles d'insectarium et en grande partie exposées précédemment (Tchuinkam *et al.*, 1993) et les données publiées par Pringle (1966) acquises avec des anophèles sauvages. Elle vient en complément du récent article de Billingsley *et al.* (1994) qui porte sur le même sujet.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MÉTHODES ENTOMO-PARASITOLOGIQUES

Les données de Tchuinkam *et al.* (1993) proviennent d'infections expérimentales réalisées dans l'insectarium de l'OCEAC (Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale), à Yaoundé, Cameroun. Des *An. gambiae* s.s. originaires de la ville de Yaoundé ont été élevés pendant plusieurs générations pour accepter de prendre des repas de sang sur membrane artificielle. Un prélèvement veineux de sang de volontaires (résidant à Yaoundé ou dans les environs proches) naturellement infectés et porteurs de gamétocytes de *Plasmodium falciparum* a été effectué dans un Vacutainer® contenant un anticoagulant. Immédiatement après le prélèvement ce sang a été thermostaté à 37 °C et proposé aux moustiques pendant 15 min à travers une membrane

de Parafilm® dans une cellule de gorgement en verre. Les moustiques gorgés ont été disséqués après 7 jours pour dénombrer les oocystes sur la paroi externe de l'estomac. Ce présent article reprend toutes les infections expérimentales de Tchuinkam *et al.* (1993) et en inclut quelques autres (tableau 1a).

Les données de Pringle (1966) ont été obtenues à partir d'*An. gambiae* s.l. récoltés fraîchement gorgés de sang humain dans les maisons vers Muheza, une zone hyperendémique du nord-est de la Tanzanie. Ces moustiques ont été conservés 4-8 jours puis examinés pour les oocystes (tableau 1b).

Les principales différences entre les deux séries de données sont les suivantes : le repas de sang a eu lieu après un prélèvement et à travers une membrane pour Tchuinkam *et al.* (1993) alors qu'il était « naturel » pour Pringle (1966) ; la présence de gamétocytes de *P. falciparum* était avérée dans tout les repas de sang pour Tchuinkam *et al.* (1993) alors qu'elle ne concernait qu'une fraction des repas de sang pour Pringle (1966) (fraction d'ailleurs non précisée autrement que par l'hyperendémie de la zone d'étude).

ANALYSE MATHÉMATIQUE ET STATISTIQUE

La méthode des moments étant peu efficace pour les surdispersions élevées (c'est-à-dire les valeurs faibles de k), Bliss et Fisher (1953) ont développé :

- une méthode du maximum de vraisemblance pour estimer k . Cette méthode a été systématiquement utilisée dans nos calculs ;
- un test pour juger si différentes distributions peuvent avoir un k commun (indiqué k_c par la suite). Le calcul du k_c est faisable seulement sur des distributions où la moyenne est différente de la variance (ce qui exclut donc du calcul les lots de moustiques sans oocystes observés).

Pour juger de la qualité de l'adéquation entre les effectifs observés et les effectifs calculés à partir du modèle, on emploie le classique test du χ^2 , complété par un

Nombre d'oocystes	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	27	29	31	36	47	64	
Nombre d' <i>An. gambiae</i>	5	117	242	99	60	39	27	23	11	12	15	4	6	4	6	8	3	2	5	3	2	1	2	3	2	1	2	3	1	1

Tableau 1a. – Distribution de 2 440 oocystes chez 5 704 *Anopheles gambiae*, infectés au laboratoire à partir de sang de 158 porteurs naturels de gamétocytes de *Plasmodium falciparum* (données partiellement publiées in Tchuinkam *et al.*, 1993).

Nombre d'oocystes	0	1	2	3-4	5-8	9-16	17-24	25	27	33	41	51	53	63	110	160	350
Nombre d'<i>An. gambiae</i>	1	447	31	12	17	9	7	7	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tableau 1b. – Distribution de 1308 oocystes de *Plasmodium falciparum* chez 1540 *Anopheles gambiae*, trouvés gorgés dans des maisons (données publiées in Pringle, 1966).

test T qui est plus sensible aux écarts portant sur la queue de la distribution (Bliss et Fisher, 1953 ; Ascombe, 1950). Il existe aussi des méthodes, simplifiées (Brass, 1958; Pichon *et al.*, 1979; Schentzle, 1979) ou par le maximum de vraisemblance (Sampford, 1955 ; Wyshak, 1974), pour analyser les distributions tronquées, c'est-à-dire sans fréquence des zéros.

Ces différentes méthodes, avec beaucoup d'autres applicables aux distributions parasitaires, sont rassemblées dans le logiciel ParaDis (Pichon et Mullon, 1992).

RÉSULTATS

OBSERVATIONS SUR LA DISTRIBUTION DES OOCYSTES DE DIFFÉRENTS LOTS DE MOUSTIQUES

Les 158 infections expérimentales de Tchuinkam *et al.* (1993) ont été pratiquées avec autant de porteurs de gamétocytes (tableau Ia). Chaque lot de moustiques a permis la dissection d'une moyenne de 34,5 moustiques (extrêmes : 12-134). Pour l'analyse de la distribution des oocystes on écarte 65 lots sans oocystes et 29 lots dont la moyenne est supérieure ou égale à la variance (correspondant à des charges oocystiques très faibles et/ou à des effectifs de moustiques disséqués < 15) ; il reste 64 lots (2 068 vecteurs) exploitables (données détaillées non présentées). Cha-

cune de ces 64 distributions est ajustable à la loi binomiale négative (BN). Leurs moyennes par lot varient de 0,04 à 8,33 oocystes/moustique (soit dans un rapport de 1 à 208), et leurs surdispersions ne sont pas significativement différentes (χ^2 d'homogénéité [63 d.d.l.] = 0,0709 ; $p > 0,9$) avec un k commun $k_c = 0,2670 \pm 0,0196$ (tableau II). La pondération par les effectifs ne modifie pas notablement cette valeur.

OBSERVATIONS SUR LA DISTRIBUTION DES OOCYSTES D'UNE POPULATION DE MOUSTIQUES

Si on regroupe les 64 lots de Tchuinkam *et al.* (1993) retenus au paragraphe précédent, on obtient un ensemble de moustiques gorgés sur une population de sujets. L'adéquation de ces données à différents modèles de distribution a été évaluée (tableau III). L'ajustement d'une BN au parasitisme des 2 068 vecteurs est jugé acceptable par deux tests différents ($P(\chi^2) > 0,5$; $P(T) > 0,1$). La loi log-normale, par rapport aux seuls 587 vecteurs parasités, s'écarte par contre très significativement des données ($p < 10^{-4}$). A titre indicatif, la série logarithmique de Fisher (1943) fournit un médiocre ajustement, mais n'a que peu d'intérêt en parasitologie puisqu'elle implique un nombre infini d'hôtes sans parasites ; de plus, bien que la valeur $k = 0,0465 \pm 0,0025$ soit une des plus faibles observée pour un couple hôte-parasite dans les conditions naturelles, elle diffère significativement de zéro, cas limite correspondant à la série

Source	Tchuinkam <i>et al.</i> (1993) ◇	Tchuinkam <i>et al.</i> (1993) ◇◇	Pringle (1966) ◇◇◇
Vecteurs	<i>An. gambiae</i> s.s.	<i>An. gambiae</i> s.s.	<i>An. gambiae</i> s.l.
nombre de vecteurs	2 068	5 704	1 540
nb. de vecteurs parasités	587	587	95
indice oocystique (%)	28,38	10,29	6,16
moyenne de Williams	0,379	0,144	0,113
intervalle de confiance (95 %)	0,339 – 0,846	0,131 – 0,158	0,085 – 0,141
intensité* ± écart type	1,058 ± 0,0796	0,430 ± 0,0535	0,874 ± 0,00189
intensité* des parasités	4,9728	4,1784	14,1864
$k \pm$ écart type	0,2670 ± 0,0196	0,0465 ± 0,0025	0,0156 ± 0,0019

◇ : analyse par lots sur les 64 infections expérimentales ayant permis le calcul de k_c (voir texte).

◇◇ : analyse globale sur la totalité des 158 infections expérimentales.

◇◇◇ : analyse globale.

* intensité = charge parasitaire (oocystique) moyenne (arithmétique) par moustique.

Tableau II. – Principaux paramètres des données de Tchuinkam *et al.* (1993) et de Pringle (1966).

Modèle	Test	Tchuinkam <i>et al.</i> (1993)			Pringle (1966)		
		d.d.l.	Prob.	Sign.	d.d.l.	Prob.	Sign.
Binomiale négative	χ^2	17	0,5246	ns	11	0,4597	ns
Binomiale négative	T		0,1337	ns		0,3290	ns
log-normale	χ^2	6	0,0000	***	7	0,0419	*
Série log. de Fisher	χ^2	9	0,0330	*	11	0,5371	ns

Tableau III. – Résultats de l'ajustement de trois modèles aux données de la distribution globale des oocystes dénombrés chez *Anopheles gambiae* par Tchuinkam *et al.* (1993) et par Pringle (1966).

logarithmique de Fisher. Les principaux paramètres de la distribution BN sont proposés tableau II.

Les données de Pringle (1966) (tableau Ib) sont largement concordantes avec les données regroupées de Tchuinkam *et al.* (1993) (tableaux II et III). Toutefois la distribution de Pringle pour laquelle $k = 0,0156 \pm 0,0019$ est très significativement plus surdispersée que celle de Tchuinkam *et al.* ($P(\chi^2 \text{ d'homogénéité}) < 10^{-4}$).

DISCUSSION

INFECTIONS INDIVIDUELLES

Notre étude établit clairement que la distribution des oocystes de *P. falciparum* chez *An. gambiae* au cours d'infections individuelles suit une loi binomiale négative (BN). Elle confirme les observations d'autres auteurs (Rutledge *et al.*, 1973; Vaughan *et al.*, 1994). La surdispersion k a été estimée par la méthode du maximum de vraisemblance qui est la plus performante. A partir des données de Tchuinkam *et al.* (1993) k apparaît très faible ($k = 0,27$). La faiblesse de cette valeur intrigue, indiquant une grande surdispersion par rapport à ce qui est observé pour les microfilaires sanguicoles (y compris chez *An. gambiae*). Ces microfilaires se succèdent les unes derrière les autres dans les capillaires où elles sont ingérées par les vecteurs sans que deux puissent passer en même temps, la formation de files d'attente explique la valeur de $k = 1,0$. Dans ces conditions, les gamétocytes de *Plasmodium* qui sont bien plus petits qu'une microfilarie et *a priori* libres dans le flux sanguin, devraient suivre une distribution plus homogène, c'est-à-dire avec $k > 1$. Dans les expériences de Tchuinkam *et al.* (1993), le fait que le gorgement soit effectué *in vitro* devrait même augmenter l'homogénéité, comme Kartman (1953) l'a observé pour la distribution de *Dirofilaria immitis*. Si la production d'oocystes était proportionnelle au nombre de gamétocytes ingérés, la surdispersion ne serait pas modifiée (Feller, 1957) et resterait donc égale ou supérieure à un. La faible valeur observée de k implique donc, soit qu'il existe des mécanismes spéciaux d'agrégation des gamétocytes avant ou pendant leur ingestion, soit qu'il y a une relation non-proportionnelle (relation densité-dépendante due à la sexualité du parasite impliquant une probabilité de rencontre des sexes) entre le nombre de gamétocytes ingérés et celui d'oocystes.

Du point de vue pratique, et comme une conséquence de la distribution BN des oocystes, la proportion attendue p_0 de moustiques sans oocyste est directement liée à l'infection moyenne m :

$$p_0 = \left(\frac{m}{m+k} \right)^k$$

D'après cette relation, connaissant la valeur de k ($k = 0,27$) on estime l'intensité (c'est-à-dire le nombre moyen d'oocyste par moustique) directement à partir de l'indice oocystique ($1-p_0$). Il suffit de regrouper les estomacs examinés en deux classes : la première sans oocyste, la seconde avec au moins un oocyste. On fait ainsi l'économie du dénombrement des oocystes, long et fastidieux, voire incertain pour les grands nombres.

INFECTIONS DANS UN FOYER

Dans les échantillons obtenus dans la nature, et dans celui de Pringle (1966) en particulier, la classe des vecteurs non parasités représente une classe composite. En effet il y a d'une part une catégorie de vecteurs « non parasitables », c'est-à-dire ceux qui ont piqué des sujets exempts de gamétocytes, et ceux qui pourraient être réfractaires à l'infection. D'autre part, il y a la catégorie des moustiques « parasitables » mais non parasités, c'est-à-dire ceux qui, gorgés sur un porteur de gamétocytes, ne doivent qu'au hasard de n'avoir pas absorbé au moins un couple de gamétocytes. Sur le plan parasitologique ces catégories ne sauraient être confondues.

L'échantillonnage de Tchuinkam *et al.* (1993) concerne uniquement les porteurs de gamétocytes, mais il n'y a pas eu d'autre discrimination : ni pour le sexe, ni pour un traitement antipaludique antérieur, ni pour le nombre de vecteurs de chaque lot, ni pour l'âge (> 4 ans). A visée exploratoire, on peut considérer que la surdispersion globale ($k = 0,0465$) des oocystes de cet échantillon correspond à une distribution « naturelle » de vecteurs provenant d'un même foyer et nourris sur une population de porteurs de gamétocytes. Cette surdispersion des charges oocystiques serait donc caractéristique du système :

An. gambiae/hôtes humains (avec gamétocytes de *P. falciparum*).

A partir de cette valeur on peut estimer la proportion de vecteurs non parasitables qui dépend des conditions particulières au foyer, en particulier le taux de porteurs de gamétocytes, la pyramide des âges des vecteurs ou leur taux de résistance aux parasites. On pourrait ainsi estimer la proportion de vecteurs non parasitables dans l'échantillon de Pringle (1966). Les diverses méthodes pour calculer les paramètres d'une distribution sans zéros perdent toute efficacité pour les très faibles valeurs de k (en pratique lorsque $k < 0,1$) (Mullon et Pichon, 1990). C'est donc par itérations successives que le nombre de vecteurs négatifs parasitables (n_{0p}) de la distribution de Pringle (1966) a été calculé en cherchant à retrouver la surdispersion globale de la distribution de Tchuinkam *et al.* (1993) : pour $n_{0p} = 458$, on trouve $k = 0,0466 \pm 0,00553$. L'ajustement par une BN est très satisfaisant ($p(\chi^2) = 0,33$;

$p(T) = 0,28$). Il y aurait donc 64,1 % des vecteurs non parasitables (989/1542) de l'effectif total (tableau IV). Un des corollaires de cette notion de vecteur non parasitable implique une base génétique à la susceptibilité d'une souche d'un vecteur pour une souche d'un parasite. Des sélections orientées dans le sens soit d'une susceptibilité soit amoindrie soit améliorée (Collins *et al.*, 1986 ; Feldmann et Ponnudurai, 1989 ; Vernick *et al.*, 1995) sont favorables à cette hypothèse qui n'a toutefois pas été démontrée dans une population naturelle d'*An. gambiae*.

Billingsley *et al.* (1994) ont effectué une étude comparable à la nôtre. Ils proposent une valeur de k pour la distribution des oocystes égale à 0,0767 calculée par une méthode non précisée et obtenue à partir d'un mélange d'*An. gambiae s.s.*, d'*An. arabiensis* et d'*An. funestus* récoltés au repos dans deux villages de la région d'Ifakara (Tanzanie), puis conservés pendant 5-7 jours avant dissection. Seuls les résultats globaux, regroupant les trois espèces, sont présentés sous forme d'un histogramme de fréquences dont nous avons extrait les données. Elles sont très bien ajustées à une BN ($p(\chi^2) = 0,827$; $p(T) = 0,716$) dont k (que nous avons calculé par la méthode du maximum de vraisemblance) est égal à $0,0466 \pm 0,0051$. Ce regroupement par espèces vectrices effectué par Billingsley *et al.* est justifié uniquement parce que les distributions d'*An. gambiae s.l.* et d'*An. funestus* ont même intensité et même k dans la zone étudiée : elles sont donc superposables (Grafen et Woolhouse, 1993). Mais un tel regroupement n'est pas généralisable : si dans le cas des données de Pringle, k est pratiquement identique pour *An. gambiae s.l.* et pour *An. funestus* (voir l'article original de Pringle pour la distribution des oocystes chez *An. funestus*) ($k_c = 0,0156 \pm 0,0012$; $p(\chi^2$ d'homogénéité) = 0,984), par contre les deux intensités sont très significativement différentes : $0,874 \pm 0,0019$ et $0,107 \pm 0,013$, respectivement. Il en résulte que la distribution regroupée ne pourrait être ajustée par une BN ($p(\chi^2) = 0,00024$; $p(T) < 10^{-6}$).

1 540 vecteurs (100%)		
988 non-parasitables non parasités (64,13 %)	552 parasitables (35,87 %)	
	457 non-parasités (29,70 %)	95 parasités (6,17 %)
1 445 total non-parasités (93,83 %)		

Tableau IV. – Analyse de la répartition des *Anopheles gambiae s.l.* parasités, parasitables non-parasités, et non-parasitables, par des oocystes de *Plasmodium falciparum* (à partir des données de Pringle (1966), en tenant compte de l'existence de la loi binomiale négative avec $k = 0,0465$).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par l'Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM) et par l'Organisation de coordination pour la lutte contre les endémies en Afrique Centrale (OCEAC).

RÉFÉRENCES

- ANONYME. Comité d'experts des filarioses. *Organisation mondiale de la Santé, série Rapport technique*, 1967, 359 p.
- ANScombe F.J. Sampling theory of the negative binomial and logarithmic series distributions. *Biometrika*, 1950, 37, 358-382.
- BEIER J.C., BEIER M.S., VAUGHAN J.A., PUMPINI C.B., DAVIS J.R. & NODEN B.H. Sporozoite transmission by *Anopheles freeborni* and *Anopheles gambiae* experimentally infected with *Plasmodium falciparum*. *Journal of the American Mosquitos Control Association*, 1992, 8, 404-408.
- BILLINGSLEY P.F., MEDLEY G.F., CHARLWOOD D. & SINDEN R.E. Relationship between prevalence and intensity of *Plasmodium falciparum* infection in natural populations of *Anopheles* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1994, 51, 260-270.
- BLISS C.I. & FISHER R.A. Fitting the negative binomial distribution to biological data. *Biometrika*, 1953, 9, 176-196.
- BRASS W. Simplified methods of fitting the truncated binomial distribution. *Biometrika*, 1958, 45, 59-68.
- COLLINS F.H., SAKAI R.K., VERNICK K.D., PASKIEWITZ S., SEELEY D.C., MILLER L.H., COLLINS W.E., CAMPBELL C.C. & GWADZ R.W. Genetic selection of a *Plasmodium*-refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Science*, 1986, 234, 607-610.
- CONTAMIN H., FANDEUR T., ROGIER C., BONNEFOY S., KONATE L., TRAPE J.F. & MERCEREAU-PUJALON O. Molecular typing of *Plasmodium falciparum* isolates collected during successive clinical malaria episodes in Senegalese children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1996, 54, sous presse.
- CROFTON H.D. A quantitative approach to parasitism. *Parasitology*, 1971a, 63, 343-364.
- CROFTON H.D. A model of host-parasite relationships. *Parasitology*, 1971b, 63, 365-371.
- DE VLAS S.J. & GRYSSELS B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitology Today*, 1992, 8, 274-277.
- FELDMANN A.M. & PONNUDURAI T. Selection of *Anopheles stephensi* for refractoriness and susceptibility to *Plasmodium falciparum*. *Medical and Veterinary Entomology*, 1989, 3, 41-52.
- FELLER W. *An introduction to probability theory and its application*, 1957, Wiley, New York.
- FISHER R.A. A theoretical distribution for the apparent abundance of different species. *Journal of Animal Ecology*, 1943, 12, 54-57.

- GLYNN J.R. Infecting dose and severity of malaria: a literature review of induced malaria. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1994, 97, 300-316.
- GRAFEN A. & WOOLHOUSE M.E.J. Does the negative binomial distribution add up? *Parasitology Today*, 1993, 9, 475-477.
- GRENFELL B.T., DAS P.K., RAJAGOPALAN P.K. Frequency distribution of lymphatic filariasis microfilariae in human populations: population processes and statistical estimation. *Parasitology*, 1990, 101, 414-427.
- GUPTA S. & DAY K.P. A strain theory of malaria transmission. *Parasitology Today*, 1994, 10, 476-481.
- KARTMAN L. Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Experimental parasitology*, 1953, 2, 27-78.
- MARCH K. Malaria, a neglected disease. *Journal of Parasitology*, 1992, 104, S53-S59.
- MULLON C. & PICHON G. Problèmes statistiques de la très grande variabilité. ORSTOM Éd, Paris. *Colloques et Séminaires SEMINFOR*, 1990, 4, 183-211.
- NODEN B.H., BEADLE P.S., VAUGHAN J.A., PUMPINI C.B., KENT M.D. & BEIER J.C. *Plasmodium falciparum*: the population structure of mature gametocyte cultures has little effect on their innate fertility. *Acta Tropica*, 1994, 58, 13-19.
- PICHON G., GALAT G., GALAT-LUONG A., REY J.L. & VEAS F. Simulation de l'impact d'un retrovirus sur un foyer de parasites métaboliques; études préliminaires. In: *Les priorités de recherche sur le VIH en Afrique*, 1993, African AIDS Research Network Ed., pp. 114-120.
- PICHON G., MERLIN M., FAGNEAUX F., RIVIERE F. & LAIGRET J. Étude de la distribution des densités microfilariennes dans des foyers de filariose lymphatique. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 1979, 31, 165-180.
- PICHON G. & MULLON C. Sur les distributions rencontrées en parasitologie : 1) ParaDis, logiciel pour l'analyse statistique des distributions parasitaires. 2) Le logiciel CinéFil : simulation des relations hôtes-parasites. ORSTOM Éd, Paris. *Colloques et Séminaires SEMINFOR*, 1992, 5, 289-301.
- PICHON G., PROD'HON J. & RIVIÈRE F. Distribution des microfilaires ingérées par les moustiques. *Document multi-grafigé, Organisation mondiale de la Santé*, 1975, WHO/FIL/75.139, 24 p.
- PICHON G., PROD'HON J. & RIVIÈRE F. Hétérogénéité de l'ingestion des parasites sanguicoles par leurs vecteurs : description quantitative et interprétation. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, série Biologie (B)*, 1980a, 18, 1011-1013.
- PICHON G., PROD'HON J. & RIVIÈRE F. Filarioses : surdispersion parasitaire et surinfection de l'hôte invertébré. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie*, 1980b, 18, 27-48.
- PONNUDURAI T., LENSEN T., VAN GEMERT G.J.A., BOLMER M.G. & MEUWISSEN J.H.E.T. Feeding behaviour and sporozoite ejection by infected *Anopheles stephensi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1991, 85, 175-180.
- PRINGLE G. A quantitative study of naturally-acquired malaria infections in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus* in highly malarious area of East Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1966, 60, 626-632.
- ROBERT V., TCHUINKAM T., MULDER B., BODO J.M., VERHAVE J.P., CARNEVALE P. & NAGEL R.L. Effect of sickle trait status of gametocyte carriers of *Plasmodium falciparum* on infectivity to anophelines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1996, 54, 111-113.
- ROSENBERG R. & RUNGSIWONGSE J. The number of sporozoites produced by individual malaria oocysts. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1991, 45, 574-577.
- RUTLEDGE L.C., WARD R.A. & BUCKWALTER R.M. *Plasmodium* spp: dispersion of malarial oocyst populations in anopheline and culicine mosquitoes. *Experimental Parasitology*, 1973, 34, 132-141.
- SAMPFORD M. R. The truncated negative binomial distribution. *Biometrika*, 1955, 42, 58-69.
- SCHENTZLE D. Fitting the truncated negative binomial distribution without the second sample moment. *Biometrics*, 1979, 35, 637-639.
- VAUGHAN J.A., NODEN B.H. & BEIER J.C. Population dynamics of *Plasmodium falciparum* sporogony in laboratory-infected *Anopheles gambiae*. *Journal of Parasitology*, 1992, 78, 716-724.
- VAUGHAN J.A., NODEN B.H. & BEIER J.C. Sporogonic development of cultured *Plasmodium falciparum* in six species of laboratory-reared *Anopheles* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1994, 51, 233-243.
- VERNICK K.D., FUJIOKA H., SEELEY D.C., TANDLER B., AIKAWA M. & MILLER L.H. *Plasmodium gallinaceum*: a refractory mechanism of ookinete killing in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Experimental Parasitology*, 1995, 80, 583-595.
- TCHUINKAM T., MULDER B., DESCHERING K., STOFFELS H., VERHAVE J.P., COT M., CARNEVALE P., MEUWISSEN J.H.E.T. & ROBERT V. Experimental infections of *Anopheles gambiae* with *Plasmodium falciparum* of naturally infected gametocyte carriers in Cameroon: factors influencing the infectivity to mosquitoes. *Tropical Medicine and Parasitology*, 1993, 44, 271-276.
- WYSHAK G. A program for estimating the parameters of the truncated negative binomial distribution. *Journal of the Royal Statistic Society, Series C*, 1974, 23, 87-91.

Reçu le 7 novembre 1995

Accepté le 4 mars 1996